不活性度性能テスト済み Agilent J&W DB-5ms ウルトライナートカラムを使用した 半揮発性分析

アプリケーション

環境

著者

Kenneth Lynam
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA

概要

アジレント・テクノロジーは、GCカラムの不活性度性能をより効果的に評価する新しいテスト手順を作成しました。新しいテスト手順では、敢えて過酷なプローブを使用して、カラムの不活性さの質を徹底的に調査します。1-プロピオン酸、4-ピコリン、トリメチルホスフェートなどのプローブを使用してカラムの不活性さの基本性能を確立することの価値を検討しました。この基本性能に基づく不活性度プロファイルは、半揮発性化合物から成るサンプル内に含まれる問題のある分析対象成分を対象にした現実のアプリケーション例に拡張されます。2,4-ジニトロフェノール、安息香酸、ベンジジンなどの分析対象成分での不活性度性能は、半揮発性化合物分析にAgilent J&W DB-5ms ウルトライナートカラムを使用する利点を示します。

はじめに

USEPAメソッド8270 [1]に類似するメソッドを使用した半揮発性化合物分析は、世界中の環境ラボにとって重要です。多数の非常に活性度の高い分析対象成分は、不活性度の点で分析担当者、装置プロバイダ、およびカラム製造業者に大きな課題を提示します。安息香酸や2,4-ジニトロフェノールなどの酸性化合物とピリジンやベンジジンなどの強塩基性化合物は、半揮発性化合物から成るサンプルに見られる活性化学種の例です。これらの化学的に活性のある化学種は、カラム自体を含め、サンプル流路内の活性面への吸着による影響を特に受けやすくなります。システムとカラムの不活性さは、どちらもこれらの活性化学種の効果的な分析に不可欠です。

何年もの間、Grobの混合物 [2]が、キャピラリGCとカラムを評価するための標準混合試料でした。この混合物は、一連のアルカン、置換フェノール（酸性成分）、アミン（塩基性成分）、アルコール、およびジオールから構成されています。従来は、事実上すべてのキャピラリカラム製造業者がGrobまたは非常によく似たテスト混合物を使用してカラム性能を評価してきました。これらの混合物は、カラム効率、注入時の溶質のディスクリミネーションに対するシステム適性、およびクロマトグラフ内の流路における潜在的な溶質吸着の評価には適切に動作します。これらの混合物内の単一の酸性および塩基性化学種に基づく不活性度評価には一定の価値がありますが、最新のキャピラリGCカラムを用いたアプリケーションで求められる厳格な不活性度要件は満たしていません[3－4]。最新のGCアプリケーションでは、カラムの不活性度性能を適切に評価するために、より包括的なアプローチが要求されます。

実験

カラムの不活性度の基本性能テストは、7683Bオートサンプラおよび FIDを装備したAgilent 6890N GCで行いました。半揮発性化合物に対するアプリケーション固有のクロマトグラムは、7683Bオートサンプラを装備したAgilent 6890N GC/5975B MSDを使用して測定しました。

表1と2に、各クロマトグラフシステムで使用したクロマトグラフ条件を示します。表3には、これらの実験で使用した主な消耗品を示します。

表1. クロマトグラフ条件6890N/FIDシステム

GC:	Agilent 6890N
サンプラ:	Agilent 7683B、0.5-µLシリンジ (部品番号 5188-5246)、 0.02-µLのスプリット注入、 カラム上の各成分1ng
キャリア:	水素定圧38cm/s
注入口:	スプリット/スプリットレス; 250°C、 1.4 mL/minのカラム流量、 900mL/minのスプリット流量、 2.0分でのガスセーバ流量75mL/min
注入口ライナ:	不活性処理したシングルテーパ (グラスウール付き) (部品番号 5183-4647)
カラム:	Agilent J&W DB-5ms ウルトライナート、 30m×0.25mm×0.25µm (部品番号 122-5532UI)
オーブン:	65°C等温
検出:	325°CのFID、450mL/minのエア、 40mL/minの水素、 45mL/minの窒素メイクアップガス

表2. クロマトグラフ条件6890N/5975B MSDシステム

GC:	Agilent 6890N/5975B MSD
サンプラ:	Agilent 7683B、5.0-µLシリンジ (部品番号 5181-5246)、 1.0-µLのスプリットレス注入、 カラム上の各成分5ng
キャリア:	ヘリウムコンスタントフロー30cm/s
注入口:	スプリット/スプリットレス; 260°C、 53.7mL/minの総流量、 0.5分でのパージ流量50mL/min、 3.0分でのガスセーバ流量80mL/min
注入口ライナ:	不活性処理したシングルテーパ (グラスウール付き) (部品番号 5183-4647)
カラム:	Agilent J&W DB-5 msウルトライナート、 30m×0.25mm×0.25µm (部品番号 122-5532UI)
オーブン:	40°C (1分)～100°C (15°C/分)、 10°C～210°C (1分)、 5°C/分～310°C (8分)
検出:	イオン源；300°C、四重極；180°C、 トランファーライン；290°C スキャン範囲　*m/z* 50～550

表3に、これらの実験で使用した主な消耗品を示します。

表3. 主な消耗品

バイアル:	褐色スクリューキャップ (部品番号 5182-0716)
バイアルキャップ:	青色スクリューキャップ (部品番号 5282-0723)
バイアルインサート:	100-µLガラス/樹脂脚付き (部品番号 5181-1270)
シリンジ:	5µL (部品番号 5181-1273)
セプタム:	アドバンスドグリーン (部品番号 5183-4759)
注入口ライナ:	不活性処理したシングルテーパ (グラスウール付き) (部品番号 5183-4647) (FIDの場合) 不活性処理したシングルテーパの ダイレクトコネクト (部品番号 G1544-80730) (MSDの場合)
フェラル:	内径0.4mmショート; 85% Vespel、 15%グラファイト (部品番号 5181-3323)
20倍拡大鏡:	20倍拡大ルーペ（部品番号 430-1020）

サンプルの調製

不活性度の基本性能評価のテストプローブは、Sigma Alrich (Milwaukee, WI 53201, USA) から購入しました。使用したジクロロエタンは、VWR International (West Chester, PA 19380, USA) を通じて購入したBurdick and Jacksonスペクトルグレードでした。半揮発性化合物の標準試料 (USEPA 8270) 溶液は、Ultra Scientific (North Kingstown, RI 02852, USA) またはAccuStandard (New Haven, CT 06513, USA) から入手しました。

溶液は、ジクロロエタン溶媒とクラスAメスピペットおよびフラスコを使用して調製しました。

結果と考察

ウルトライナートカラムの不活性度を示す基本性能のプロファイル

クロマトグラフシステムとそのシステムで使用されるカラムの適合性を迅速に評価する1つの手段は、システムで問題のある分析対象成分の混合物を故意に注入することです。優れたサンプル回収率とピーク形状は、注入システムが適切に機能していることを示し、カラムの基本性能に基づく不活性度を示すプロファイルを形成します。そのプロファイルは、半揮発性化合物のサンプル内にあるような化学的に活性な化学種を成功裏に分析が行えるかの予測をするのに役立ちます。より要求の厳しいテスト混合物を使用してカラムの不活性度の性能を証明することは、キャピラリGCウルトライナートカラムシリーズのすべてのカラムに対してとったアプローチです。

このアプリケーションは、GCキャピラリカラムの不活性度を証明するための、より厳格なテスト手順の実際を示します。不活性度を証明するために選択された基本性能テスト混合物には、1-プロピオン酸、4-ピコリン、トリメチルホスフェート、および1-ヘプタノールが含まれます。主要なカラム評価基準には、k' 5でのn-デカン溶出の効率、プローブピーク形状、および隣接して溶出するアルカンとの比較での4-ピコリンとトリメチルホスフェートのピーク高さ比が含まれます。活性度の低いアルカンとの比較での4-ピコリンやトリメチルホスフェートなどの活性の高い分析対象成分のピーク高さ比は、反応性の高い分析対象成分に対する表面活性度を示します。比率が高いほど、不活性度が優れていることを示します。これらの過酷なプローブでのテストは、問題のある酸性化学種および塩基性化学種に対する不活性度を評価するための、より実証的なツールとなります。このテスト手順によって、カラム不活性度QCテストの基準が上がり、一貫性のあるカラム性能に新しい業界標準が設定されます。

図1に、ウルトライナートDB-5msカラムの不活性度の基本性能を示すクロマトグラムを示します。トリメチルホスフェートのピーク形状に注意してください。この化合物は、このクロマトグラム例ではわずかなピークのテーリングを示していますが、この分析対象成分としてはして非常に良いピーク形状を示しています。この分析対象成分に対して見られるピークのテーリングは、カラム不活性度を評価する優れたツールになり、より不活性度の低いカラムでは、このピークがまったく見られないことがあります。

半揮発性の問題のある分析対象成分

カラム性能の評価では、不活性度の新しい基本性能テストとは別に、USEPAメソッド8270用サンプルに固有の化合物を参考にし、それらを簡略化して用いました。半揮発性化合物の混合物 [5]には、N-ニトロソジメチルアミン、アニリン、安息香酸、2,4-ジニトロフェノール、4-ニトロフェノール、2-メチル-4,6-ジニトロフェノール、ペンタクロロフェノール、4-アミノビフェニル、ベンジジン、3,3'-ジクロロベンゼン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテン、および推奨される内標準が含まれています。これらの化学種は極性については塩基性化学種から酸性化学種まで、また溶出時間については非常に早いニトロソアミンから非常に遅い多環芳香族炭化水素（PAHs）まで、範囲を定めて選択しました。図2は、各成分の5ngオンカラム注入における問題のある分析対象成分を含む混合物の全イオンクロマトグラムです。

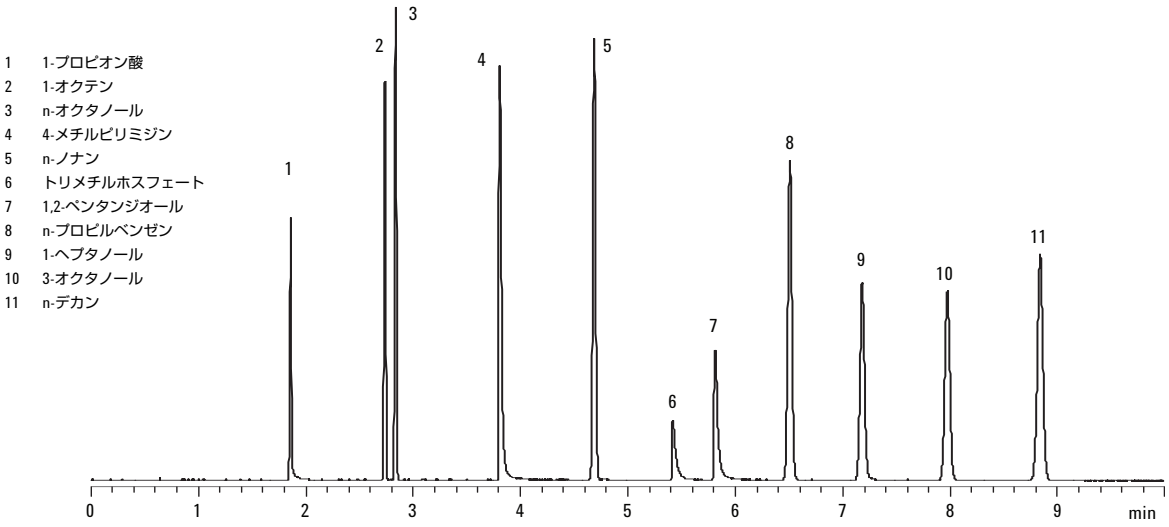

図1. 不活性度基本性能テストのクロマトグラム、Agilent J&W DB-5ms ウルトライナートカラム
（部品番号 122-5532UI）に1ng/成分を注入、表1に示したクロマトグラフ条件、表3に示した消耗品を使用

1 N-ニトロソジメチルアミン
2 アニリン
3 1,4-ジクロロベンゼン-D4
4 安息香酸
5 ナフタレン-D8
6 アセナフテン-D10
7 2,4-ジニトロフェノール
8 4-ニトロフェノール
9 2-メチル-4,6-ジニトロフェノール
10 ペンタクロロフェノール
11 4-アミノビフェニル
12 フェナントレン-D10
13 ベンジジン
14 クリセン-D12
15 3,3'-ジクロロベンゼン
16 ベンゾ[b]フルオランテン
17 ベンゾ[k]フルオランテン
18 ペリレン-D12

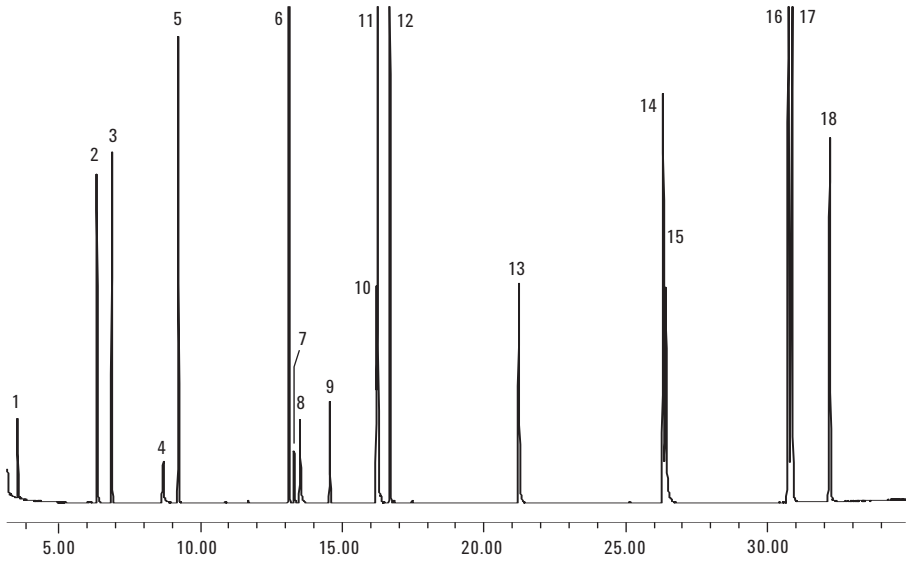

図2. 簡略化した半揮発性化合物のテストにおけるクロマトグラム、Agilent J&W DB-5ms ウルトライナートカラム（部品番号 122-5532UI）に5ng/成分を注入、表2に示したクロマトグラフ条件、表3に示した消耗品

USEPA 8270によるシステム安定性の1つの主要な評価基準は、2,4-ジニトロフェノールおよびそれに最も隣接して溶出する内標準のアセナフテン-D10のレスポンスファクタです。（濃度範囲全体での）最小の許容平均レスポンスファクタは0.050で、典型的な範囲は0.1～0.2です。このレスポンスは、低濃度で低下する傾向、またクロマトグラフシステムまたは標準試料が正常でなくなり始めると低下する傾向にあります。図2では、それぞれ5µg/mLの濃度で、2,4-ジニトロフェノールのレスポンスファクタが0.1を超え、4-ニトロフェノールでは0.2を超えました。これらの値は、標準濃度が低い場合でもカラム性能が優れていることを示しています。

ベンジジンの回収率は、半揮発性化合物の分析に対する不活性度性能のもう1つの主要な指標です。この塩基は、注入口での熱分解と、溶液中での酸化が起こりやすい特徴があります。260℃を超える注入温度は、ベンジジン回収率が大幅に低下する原因となりました。注入口温度を設定するときに、より重いPAHsの溶出とベンジジン回収率のバランスをとる必要がありました。260℃の注入口温度設定は、ベンジジンの優れた回収率が得られ、またより高い分子量のPAHsが蒸発するのに十分であることが分かりました。

半揮発性化合物の多成分混合物

図3に、より広い範囲の半揮発性分析対象成分の5ngオンカラム注入の例を示します。この多成分から成る混合物は、AccuStandard®半揮発性混合物1、2、3、4a、4b、5、6のすべてを計算上5µg/mLの濃度になるように調製しました。沸点が非常に低いN-ニトロソジメチルアミンから非常に高いベンゾ[g,h,i]ペリレンまで、合計で93の半揮発性化合物がこの混合物に含まれています。また、この混合物には分析対象成分の多様な極性が見られました。図3の強調表示された領域は、最も近い溶出ピークのフルオランテンとの相対で、非常に塩基性の高いベンジジンのレスポンスおよびピーク形状を示しています。この多成分混合物系でも、ベンジジンは優れた相対レスポンスとピーク形状を示しました。

1 N-ニトロソジメチルアミン
2 2- メチルピリジン
3 ベンジジン
4 フルオランテン
5 ベンゾ[g,h,i]ペリレン

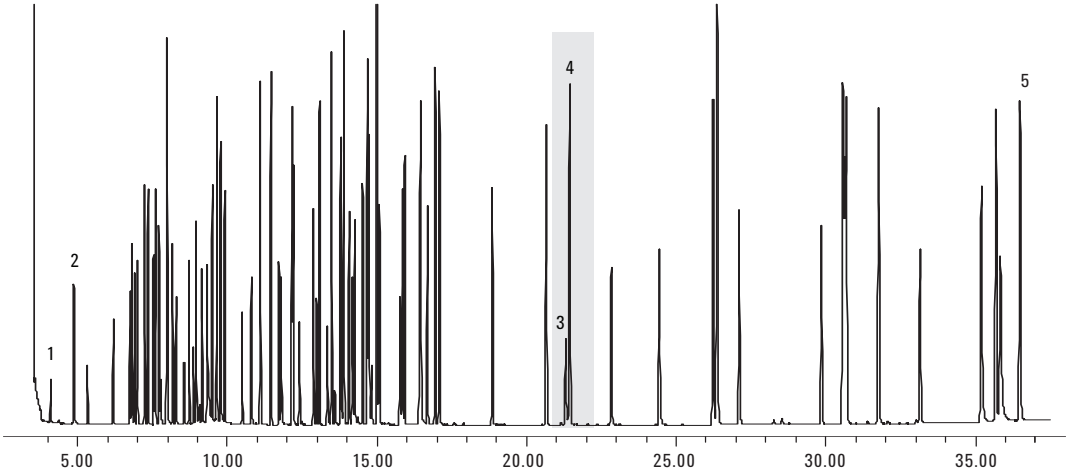

図3. 半揮発性化合物（多成分混合物）テストにおけるクロマトグラム、Agilent J&W ウルトライナート DB-5msカラム（部品番号 122-5532UI）に5ng/成分を注入、表2に示したクロマトグラフ条件、表3に示した消耗品。特定のいくつかのピーク、すなわち溶出の早い化学種と溶出の遅い化学種にラベルが付けられています。またベンジジン（ピーク3）とフルオランテン（ピーク4）のピークは、強調表示されたセクションに示されています。

結論

過酷なプローブを使用した厳格なカラム不活性度テストによって、活性のある分析対象成分に対し一貫した信頼性のあるカラムの不活性度が保証されます。1-プロピオン酸、4-ピコリン、トリメチルホスフェートなどの問題のあるプローブは、活性のある分析対象成分に対するカラム動作の予測指標として、多くのカラム製造業者が使用している従来のGlobの混合物よりも優れています。これらの過酷なプローブを使用した不活性度テストによって、不活性度に対し適切に定義された基本性能を持つカラムが作成されます。

不活性度が適切に定義された基本性能を持つカラムは、分析担当者が半揮発性化合物の分析を開始するための信頼性のあるプラットフォームを提供します。この一連の実験で使用したウルトライナートDB-5msカラムは、N-ニトロソジメチルアミン、2,4-ジニトロフェノール、4-ニトロフェノール、ベンジジンなど、半揮発性化合物サンプル中の最も難しい分析対象成分に対して優れた不活性度性能を実証しています。また、これらの難しい化学種に対して観察された優れた回収率とピーク形状は、5ngのオンカラム注入であっても、これらの新しいウルトライナートDB-5msカラムでの半揮発性化合物の分析が成功することを示しています。

参考文献

1. US EPA Method 8270D, Revision 4, February 2007, “Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)”
2. K. Grob Jr., G. Grob, and K. Grob, “Comprehensive, Standardized Quality Test for Glass Capillary Columns,” *Journal of Chromatography A*, Vol. 156, Issue 1, 21 August 1978, Pages 1–20
3. Mitch Hastings, Allen K. Vickers, and Cameron George, “Inertness Comparison of Sample of 5% Phenyldimethylpolysiloxane Columns,” Poster Presentation, 54th Annual Pittsburg Conference, Orlando, FL, March 2003
4. Jim Luong, Ronda Gras, and Walter Jennings, “An Advanced Solventless Column Test for Capillary GC Columns,” *J. Sep. Sci.*, 2007, 30, 2480–2492
5. Mike Szelewski and Bill Wilson, “Improvements in the Agilent 6890/5973 GC/MSD System for Use with USEPA Method 8270,” Agilent Technologies publication 5988-3072EN

www.agilent.com/chem/jp

詳細情報

弊社の製品とサービスの詳細については、
www.agilent.com/chem/jp のWebサイトをご覧ください。

アジレントは、本文書に含まれている誤り、または本文書の供給、性能、あるいは使用に関連する偶然または間接的な損害に対して一切責任を負いません。

本文書に記載されている情報、説明、および仕様は、予告なく変更される場合があります。

© Agilent Technologies, Inc. 2008

Printed in Japan
May 19, 2008
5989-8616JAJP

Agilent Technologies